

ドライバレー塩湖から分離した微生物とその生息環境

和 栗 修*

Isolation of Microorganisms from Salt Lakes in the Dry Valley, Antarctica, and Their Living Environment

Osamu WAGURI*

Abstract: Isolation of microorganisms and determination of gases dissolved in waters of unfrozen salt lakes in the Dry Valley of Antarctica were carried out, as part of the Dry Valley Drilling Project (DVDP) of the McMurdo Sound region during the 1974–1975 summer season.

Samples were collected in and around the Lakes Bonney, Fryxell and Vanda. Gas-chromatographic and GC-Mass spectrometric analysis of these liquid gaseous samples revealed oxygen, nitrogen and carbon dioxide from in waters of all lakes, and methane and unknown gas (m/e 22) were detected in waters of Lakes Bonney west lobe and Vanda.

Eumycetes were isolated from the samples collected; one species from the bottom water of Lake Bonney east lobe, three species from surface water of Lake Fryxell and thirteen species from other samples than from salt lakes. Fourteen species of these isolates have not been reported before from Antarctica.

Two or more species of bacteria were isolated from the bottom water of Lake Fryxell. One species was gram-positive rods and the other was gram-negative vibrio type bacterium with stalk. The stalked bacterium seems to be an unknown species of *Caulobacter*. Reports of the isolation of bacteria of this type in Antarctic samples have not been published to date.

要旨: ドライバレー地域に存在する不凍塩湖の溶存ガス分析および微生物の検出を試みるために、1974–75年ドライバレー掘削計画の日本隊に参加した。

ボニー、フリクセル、バンダ湖を中心にその他、マクマードサウンド内でも試料を採集した。

溶在ガスは、ボニー東、西、フリクセル、バンダ湖で O_2 , N_2 , CO_2 , Ar が検出され、ボニー西、バンダ湖では CH_4 および未知ガス成分 (m/e 22) も検出された。

真菌類はボニー東湖底層水で *Diheterospora catenulata* が分離された。フリクセル湖湖縁水で *Aureobasidium foliicolum* と2種の酵母が分離され、その他地域で13種分離できた。これらの内14種は南極大陸で初めて検出されたものである。

細菌はフリクセル湖でのみ2種以上検出された。1種はグラム陽性杆菌であり、もう1種は stalk をもったビブリオ状グラム陰性菌であり、この stalk をもった細菌

* 大阪市立大学医学部。Osaka City University Medical School, Asahimachi, Osaka 545.

は *Caulobacter* の1種と考えられるが, *Caulobacter* は南極大陸からは全く検出されておらず, 分離された細菌は形態または生理的性状から新種であると思われる.

1. は し が き

南極ヴィクトリアランド・ドライバレー地域において, 1971年度よりドライバレー掘削計画(DVDP: Dry Valley Drilling Project)が行われているが, 今回, 1974年度 DVDP 日本隊に参加し, 極限環境下で生命活動が営まれている可能性があると思われるドライバレー地域に存在する不凍塩湖-バンダ湖 (Lake Vanda), ボニー湖 (Lake Bonney), フリクセル湖(Lake Fryxell)-での微生物の採集と分離, およびその生息環境因子の1つとして重要であるにもかかわらず, 今まで明らかにされていなかった塩湖水の溶存ガス分析を行った.

2. 目 的

ドライバレー地域は数100万年前に形成され, 周囲を氷で囲まれた3つの大きな乾いた谷の状態を維持して, 今日までに至っていると言われている. これらの谷には特有な塩組成(YAMAGATA *et al.*, 1967)をもった塩湖が存在している(図1).

生物学的にはこのような極端な環境下で, しかも周囲を氷で閉ざされた地域での生物の生命維持や, 適応機構に関心がもたれ, 近年になって微生物の研究が活発に行われるようになった. その結果, 土壌 (MENNA, 1960, 1966a, 1966b; MEYER *et al.*, 1962; TUBAKI *et al.*, 1965; SUGIYAMA *et al.*, 1967; CAMERON *et al.*, 1972; HOROWITZ *et al.*, 1972), 湖水 (ME-

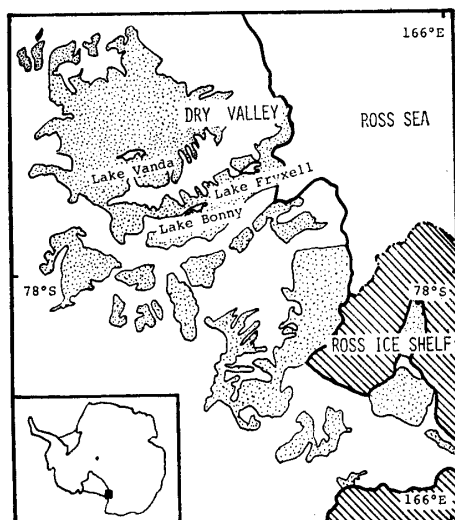


図1 ドライバレー地域
Fig. 1. Map of the Dry Valley.

YER *et al.*, 1962; SUGIYAMA *et al.*, 1967; GOTO *et al.*, 1969; CAMERON *et al.*, 1972) から数種の Eukaryote が分離されている。しかし, Prokaryote の細菌に関しては, いまだにボニー湖, バンダ湖, フリクセル湖からの分離はなされていない。

過去に南極大陸で分離された細菌は基地周辺が多く, 人為汚染または動物, 風などによって運ばれたものが, 0°C 以下の低温で生命活動が休止されたままの状態が存在し, のちに微生物研究者によって検出された, という可能性が大きい。今回はそれらの汚染が少ないと思われる, ドライバレー地域内に存在する不凍塩湖での微生物の検出を試みた。

3. 材料と方法

3. 1. 溶存ガス分析

3.1.1. 南極でのガス分析試料の採取方法

塩湖はすべて 3-4 m の厚さの氷でおおわれている。そこであらかじめ最深部地点を予測し, その地点で氷錐 (ice auger) により直径約 12 cm の穴を開けた。採水は北原式採水器 (B-5) により, 種々の深さの水を採水した。採取した湖水は, 採水器上部のゴム栓に 20 ml 注射器針をそう入し, 空気からしゃ断された状態でゆっくり注射器内に移し, さらに容量 12 ml のバイアルビンにゆっくり注入した。基地に持ち帰るまでの間は, 氷および氷と寒剤 (食塩) により 0°C または約 -2°C に保った。マクマード基地では, フリクセル湖の試料は屋外の日影に, その他の試料は約 -2°C の冷凍室 (地学研究室内) に保存し, 順次ガスクロマトグラフで分析を行った。

3.1.2. 溶存ガス分析

マクマード基地での湖水溶存ガスの分析は, 日本から持参した島津 GC-6A (TCD) ガスクロマトグラフを用いた。カラムはステンレス 2 m × 4 mm (o.d.), 充てん剤は Porapak Q または molecular sieve No. 5A (60-80 mesh) を用い, 60-110°C で分析した (注入口および検出器温度は 130-150°C)。キャリアガスは He (純度 99.99% 以上) で流量は 24-32 ml/min, 分析試料は, 25-30 μ l を直接マイクロシリンジで注入した。H₂O ピークが現われると, 昇温により H₂O を全部除き, 次の試料を分析した。

3.1.3. 帰国後の湖水溶存ガス分析

分析試料はすべて冷凍航空貨物で日本へ持ち帰り, 島津 LKB 9000 型ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いて分析を行った。まず, GC により南極基地と同じ条件で分析を試みたが, ピークの再現性が乏しかったので, GC-MS では定性のみにとどめた。

3. 2. 微生物調査用湖水と土壌の採集地および採取方法

3.2.1. 塩湖水試料

ボニー、バンダ、フリクセル湖での湖水採取は、溶存ガス試料採水と同じ穴を使用し、また、採水器は 70-80%エチルアルコールで消毒後使用した。採取した湖水は、採水器下部コックより無菌的に 500 ml のガス滅菌済ポリ容器に移した。試料はすべて 0°C 以下に保って日本へ持ち帰り、微生物の分離に供した。

3.2.2. 塩湖以外の採集地

液体試料は Don Quixote 池 (No. 1, 3, 4, 5), Don Juan 池, Chad 湖, ボニー東, フリクセル, バンダ湖湖縁水, Onyx 川, Bull 池, Tayler, Rhone, Lacroix, Sollas, Hufhes, Commonwealth, Canada 氷河融解水およびスコット (Scott) 基地周辺で採取し、すべて 0°C 以下に保って日本へ持ち帰った。土壌試料は扇状地, Canopus 池, Don Quixote 池, ボニー東湖, フリクセル湖, バンダ湖周辺, Taylor, Rhone, Meserve, Lacroix, Commonwealth, Canada 各氷河末端部, スコット基地, マクマード基地周辺, Bird 岬で採取した。以上の土壌試料はナイロン袋に採取し (10-20g), さらに紙封筒に入れかえ, スコット基地で風乾後, 日本に空輸した。以上の試料は特に無菌的に扱わなかった。

3. 3. 微生物の培養方法

3.3.1. 真菌類

アクロマイシン 50 μ g/ml, クロロマイシン 30 μ g/ml, ブドウ糖 0.1%, 酵母エキス 0.1%を加えた 1.5% 寒天培地に 8°C で培養した。さらにまた, MYA 培地 (肉エキス 0.3%, 酵母エキス 0.3%, ペプトン 0.5%, ブドウ糖 1% pH 4.5) に 15-20°C で培養した。接種量は水試料 1 ml, 土壌試料は 3 g であった。

3.3.2. 細菌

寒天平板培地 (酵母エキス 0.1%, ペプトン 1% に各湖に類似させた塩組成を加えたもの, pH 7.2, バンダ湖のみ pH 5.76), または有機栄養分を除いた上記寒天培地を用い, 温度は 2°C および 25°C で好氣的または嫌氣的 (スチールウール法) に培養を試みた。発育温度域は東洋 TN-3 型温度勾配振とう培養器を用い, L 字型試験管で振とう (67回/分) し, 550 nm で比色により測定した。抗生物質感受性テストはディスク法で行った。

3.3.3. 電子顕微鏡的検索

細菌の電子顕微鏡的検索は, 試料を 2.5% グルタルアルデヒドで 1 時間前固定後, 1%

酢酸ウラン染色を行い、30分後 2000 r.p.m. 10分で遠沈し、沈渣に蒸留水を加えて軽く振とうし、鏡検試料とした。この菌浮遊液を濾紙上に並べた 150 mesh (3%ホルムバール支持膜) の上に注射器で軽く落とし、できるだけ早く下の濾紙に余分な液を吸い取らせた。1夜以上デシケータで乾燥後、日立 Hu-Ds 11 型電子顕微鏡 (100 kV) により観察した。

4. 結 果

4. 1. 塩湖水溶存ガス

溶存ガスは基地において、湖水より完全に分離することが困難であったので、湖水を直接ガスクロマトグラフに注入して分析した。したがって、 H_2O の存在が大きな障害となったので、今回は H_2O のピークの出現以前に分離されるガスのみを調べた。なお、Porapak Q カラム充てん剤で、 H_2O ピーク以前に現われるピークは、 H_2 , N_2 , O_2 , Ar , CO , CH_4 , CO_2 , NO , NH_3 , H_2S , $HCOH$, NO_2 である。また、帰国後のガスクロマトグラフによる分析では、南極基地で検出されたチャート上のピーク面積の減少および消失が目立ったので、GC-MS 分析は定性のみ行った。

ボニー東湖 (図 2) は、深さにより溶存ガス組成に著しい差がみられた。ピーク P1 は 10 m, 36 m で多く、19 m, 26 m では少なくなっているが、ピーク P2 は 19 m, 36 m で多くなっており、深度により溶存状態に大きな差がみられた。P1 の成分は GC-MS での同定の結果、

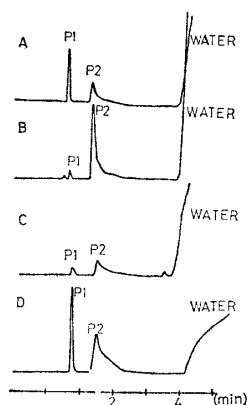


図 2 ガスクロマトグラフィによるボニー東湖の溶存ガス分析

Fig. 2. Gas-chromatogram of dissolved gases in water at different depths of Lake Bonney east lobe (A: 10 m; B: 19 m; C: 26 m; D: 36 m).

Column: 2 m, Porapak Q; sample: 30 μ l; carrier gas: helium, 32 ml/min (A and B) or 24 ml/min (C and D); detector temperature: 130°C (A and B) or 150°C (C and D); column temperature: 70°C (A and B) or 80°C (C and D).

m/e 28, 32, 40 の各イオンピークが検出され, N_2 , O_2 , Ar が含まれていることが明らかとなった. また P2 は m/e 44 の強い基準ピークを示し, ほとんどが CO_2 でその他, m/e 16 のイオンから CH_4 の存在が推定された (図 3).

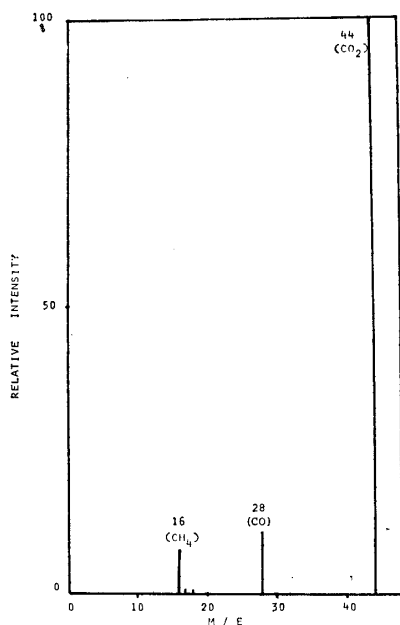


図 3 GC-MS によるボニー東湖溶存ガス(P2)の同定

Fig. 3. GC-Mass spectrum of P2 in Fig. 2 of Lake Bonney east lobe bottom water.

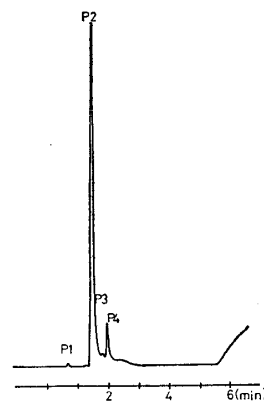


図 4 ガスクロマトグラフィによるボニー西湖の溶存ガス分析

Fig. 4. Gas-chromatogram of dissolved gases in water of Lake Bonney west lobe (depth, 28 m). Sample: 25 μ l; carrier gas: 32 ml/min; detector temperature: 150°C; column temperature: 60°C.

ボニー西湖は底層水のみ分析した (図 4) が, P1 は N_2 , O_2 , Ar であり, O_2 の比率が特に大きいことが特徴づけられる (図 5). P2 は他の湖に比べて著しく多く, GC-MS では, ほとんどが CO_2 で, その他少量の CH_4 , N_2 または CO, そして m/e 22 イオンを有する未知の成分が検出された (図 6). P3, P4 は帰国後の分析では再現がみられず, GC-MS による同定もできなかった.

バンダ湖 (図 7A) は P1 が N_2 , O_2 , Ar であるが, N_2 , O_2 の比がほぼ 4:5 であること (図 8) から, O_2 の溶存量が他に比べて高いことが示唆された. P2 はボニー西湖と同様に CO_2 が大部分を占め, CH_4 , CO および未知成分 (m/e 22) もみられた (図 9). 図 7B は基地において, 最初の頃にみられた GC のチャートで, 以後再現性はなかった.

フリクセル湖では (図 10), GC のピーク P1 に相当する N_2 , O_2 , Ar および P3 の成分 CO_2 , CO (図 11) のみで, CH_4 , m/e 22 は認められず, 溶存ガスの種類の極めて少ないこと

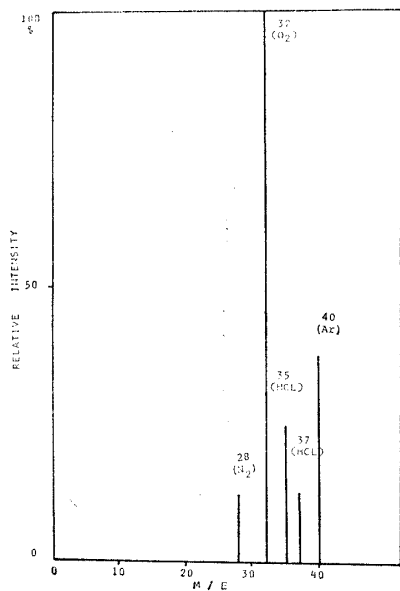


図 5 GC-MS によるボニー西湖溶存ガス(P1)の同定

Fig. 5. GC-Mass spectrum of P1 in Fig. 4 of Lake Bonney west lobe bottom water.

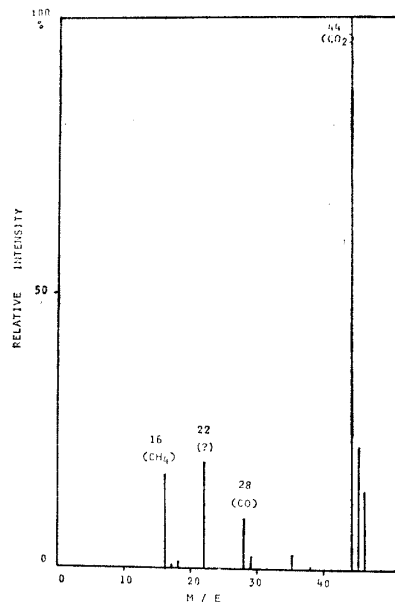


図 6 GC-MS によるボニー西湖溶存ガス(P2)の同定

Fig. 6. GC-Mass spectrum of P2 in Fig. 4 of Lake Bonney west lobe bottom water.

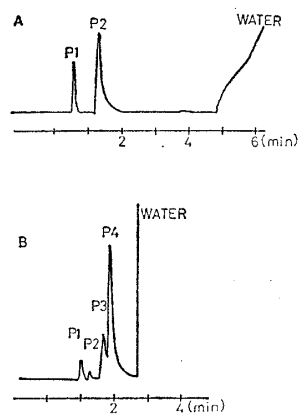


図 7 ガスクロマトグラフィによるバンダ湖の溶存ガス分析

Fig. 7. Gas-chromatogram of dissolved gases in water of Lake Vanda (depth, 68 m). Sample: 30 μ l; gas flow: 24 ml/min; column temperature: 80°C (A) and 100°C (B).

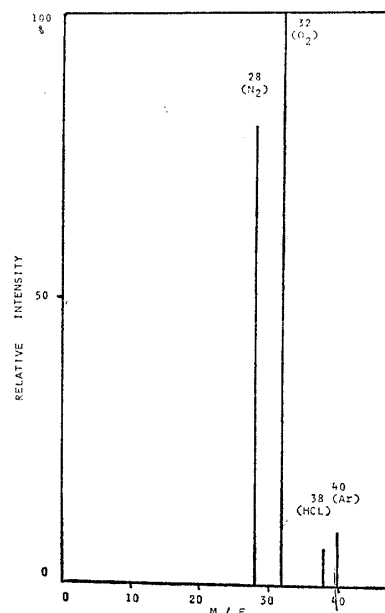


図 8 GC-MS によるバンダ湖溶存ガス(P1)の同定

Fig. 8. GC-Mass spectrum of P1 in Fig. 7A of Lake Vanda bottom water.

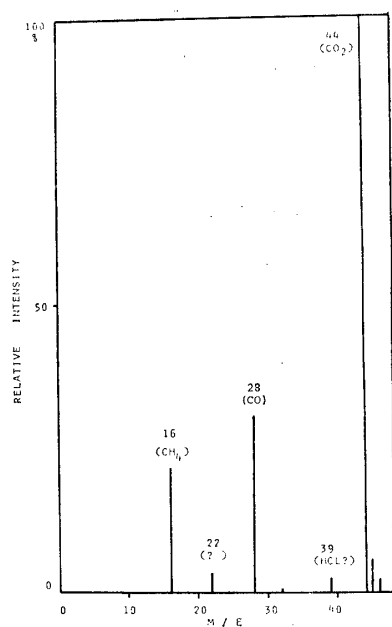


図 9 GC-MS によるバンダ湖溶存ガス (Fig. 7A, P2) の同定

Fig. 9. GC-Mass spectrum of P2 in Fig. 7A of Lake Vanda bottom water.

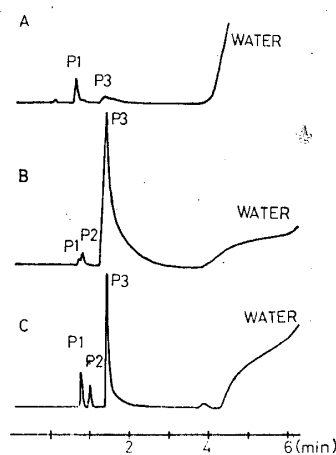


図 10 ガスクロマトグラフィによるフリクセル湖の溶存ガス分析

Fig. 10. Gas-chromatogram of dissolved gases in water of different depths of Lake Fryxell (A: 4 m; B: 12 m; C: 18 m).

Sample: 25 μ l; gas flow: 32 ml/min; detector temperature: 130°C; column temperature: 70°C.

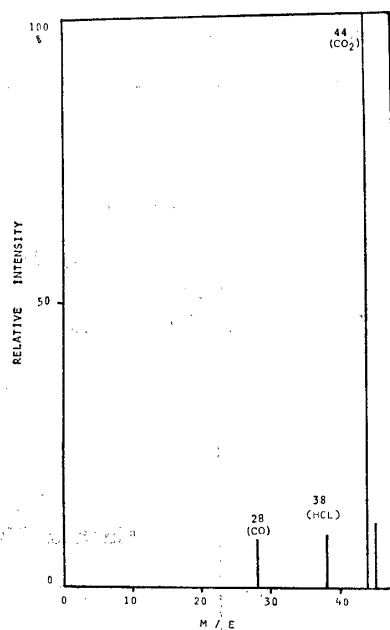


図 11 GC-MS によるフリクセル湖溶存ガス (P3) の同定

Fig. 11. GC-Mass spectrum of P3 in Fig. 10 of Lake Fryxell bottom water.

が特徴的であった。しかし、帰国後の試料分析では P2 の再現性がなく、P2 ガス成分の検討が必要とされる。以上の結果を表 1 にまとめた。これによると、バンダ湖とボニー西湖の湖水は、溶存ガス組成が類似していることがわかった。

表 1 塩湖の溶存ガス分布
Table 1. Specific distribution of liquid gas into lake water.

Gas sample	CO ₂	N ₂	O ₂	Ar	CO	m/e 16	-22	-40
Lake Vanda	++	+	+	+	+	++	+	+
Lake Bonney west lobe	+++	+	+	+	+	++	++	+
Lake Bonney east lobe	++	+	+	+	+	±	-	+
Lake Fryxell	++	+	+	+	+	-	-	-

4. 2. 微生物の分離

4. 2. 1. 真菌類

可及的無菌的に採取した試料は、樺との共同研究により17種の菌類が分離された(表 2)。不完全菌の *Chrysosporium* sp., *Dendryphiella* sp., *Penicillium* sp. はすでに南極オングル島で分離されているが (TUBAKI, 1961), その他はすべて南極では初めて検出されたものである。Zygomycetes の *Mucor hiemalis*, *Mortierella* sp. はアラスカ地方で分離されており, Ascomycetes の *Thelebolus microsporus* もアラスカ地方で分離され, 動物の糞由来のものとされている。 *Chrysosporium* sp. は南極およびアラスカ地方で分離され, 寒冷地に多いものとされている。その他, 初めて分離された *Aureobasidium foliicolum* はピンク色の集落をつくり, また酵母は出芽痕がみられ, 何れも非常に特異なものであった。これらの真菌類に関しては別に樺と共同で詳細に報告する予定である。

表 2 マクマードサウンドから分離された真菌類
Table 2. Fungi isolated from the Antarctic materials.
K. TUBAKI (Tukuba University)

Species	Locality of samples
Zygomycetes:	
<i>Mucor hiemalis</i> WEHMER**	Scott Base (pool water)
<i>Mortierella</i> sp.**	Cape Bird (soil)
" "	Canada Glacier (melt water)
Ascomycetes:	
<i>Thelebolus microsporus</i> ** KIMBROUGH	Scott Base (pool water)
Deuteromycetes:	
<i>Aureobasidium foliicolum</i> MULLER	Lake Fryxell (surface water)
" "	Lake Chad (surface water)
" "	Canada Glacier (melt water)

Species	Locality of sample
<i>Aspergillus versicolor</i> TIRABOSCHI	Onyx River (water)
<i>Aspergillus</i> sp.	Onyx River (water)
<i>Cephalosporium</i> sp.	Cape Bird (soil)
<i>Chrysosporium</i> sp.* **	Scott Base (pool water)
" "	Cape Bird (soil)
<i>Dendryphiella</i> sp.* (D. salina ?)	Lake Bonney east lobe (bottom water)
<i>Diheterospora catenulata</i> KAMYSCH	Scott Base (pool water)
<i>Penicillium</i> sp.*	Canada Glacier (melt water)
" "	Lake Chad (surface water)
Unidentified	Cape Bird (soil)
Yeast	Lake Fryxell (surface water)
"	Lake Fryxell (ice)

* Already found in Antarctica.

** Already found in Alaskan Arctica.

4.2.2 細菌

塩湖の塩組成および温度は YAMAGATA *et al.* (1967), TORII *et al.* (1967) によって詳しく調べられており、底層水だけを比べてみると(表 3), 各湖とも著しい差異があり、ボニー東

表 3 各塩湖底層水の塩組成
Table 3. Salt composition of lakes' bottom water.

Salt lake	Depth (m)	Temp. (°C)	K ⁺ (g/kg)	Na ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Cl ⁻	SO ₄ ⁻⁻
L. Bonny east lobe	34	-2.8	2.87	36.0	1.54	26.03	154.50	2.95
L. Bonny west lobe	28	-4.7	1.41	22.7	2.16	7.47	69.36	4.19
L. Fryxell	18	1.9	0.213	2.35	0.063	0.34	3.77	0.18
L. Vanda	68	24.9	1.490	2.40	22.90	6.60	68.75	0.63

湖は、水温は -2.8°C で MgCl₂ が 10%, NaCl が 9% も溶解しており、ボニー西湖は水温が -4.7°C, NaCl が 5.8%, MgCl₂ が 3.1% 含まれている。また、バンダ湖は水温が +24.9°C, NaCl 1.2%, MgCl₂ 2.5%, CaCl₂ が 6.4% 含まれており、フリクセル湖は水温 1.9°C, NaCl 0.6%, MgSO₄ 0.15% 含まれている。

そこで培地塩類組成をほぼ各湖の組成に合わせ、さらに有機栄養源として 0.1% 酵母エキスを、1% ペプトンを加えたもの、あるいは両者を加えない寒天培地をつくり、湖水 0.1 ml または 0.5 ml を接種し、培養を試みた。培養方法は好気的および嫌気的条件で行い、温度

は 2°C と 25°C で培養を行った。

その結果、上記いずれの培養法を用いても、ボニー東、西およびバンダ湖の試料からは微生物の検出はできなかった。

フリクセル湖の底層水を無菌的に、NaCl 6.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3 g, ペプトン 10 g, 酵母エキス 1 g, 寒天 15 g/l (pH 7.2) の寒天培地に 0.1 ml 接種し、25°C で好氣的に約 1 カ月培養したものから、オレンジ色と非常に小さい白色のコロニーが多数現われた。2°C で培養は 2 カ月以上培養の後、オレンジおよびピンク色のコロニーが現われた。嫌気培養では発育はみられなかった。

2°C で分離できた細菌の性状は現在検査中であるが、25°C で分離できた細菌との同一性はまだ確かでない。

25°C で分離できた細菌の内、オレンジ色のコロニーは円形で直径約 2mm, 半球形で均質であり、表面は光沢があり (0.5% ブドウ糖加培地上ではよりオレンジ色がはっきりする)、辺縁は平滑で固着性は少ない。顕微鏡下では、 $0.5 \times 1-4\mu$ の杆状で菌体の軸は直線、側面は不規則、両端まるく、固有運動はなく、鞭毛、莢膜もないグラム陽性杆菌である。

白色コロニーは培養 5 日後で、直径約 50μ で非常に小さく、顕微鏡下 (100倍) でコロニーの所在を確かめてから分離を行った。このコロニーは半球形で、表面は微細な顆粒状を示し、辺縁は平滑でさらに不透明で、サラサラしており固着性は少ない。顕微鏡下 (1,000 倍) ではビブリオ状の杆菌で、大きさは $0.5 \times 1\mu$, 芽胞、莢膜はなく、グラム陰性の性質をもつ杆菌であり、1mM MgSO_4 添加培地では rosette formation がみられた。

この小杆菌を電子顕微鏡で観察すると、直径約 60 nm の原形質膜が連続した stalk をもっていた (図 12)。まれに stalk の先より直径約 15 nm の分枝がみられた (図 13)。また stalk

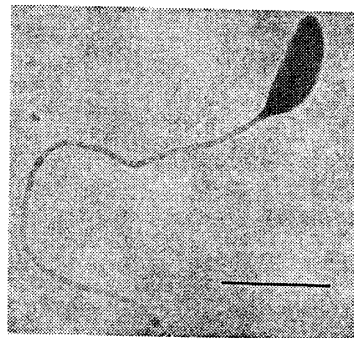


図 12 Fz strain の電子顕微鏡写真

Fig. 12. Electron micrograph of Fz strain. Negatively stained with 1% uranyl acetate after the fixation with 2.5% glutaraldehyde. The bar indicates $1\mu\text{m}$.

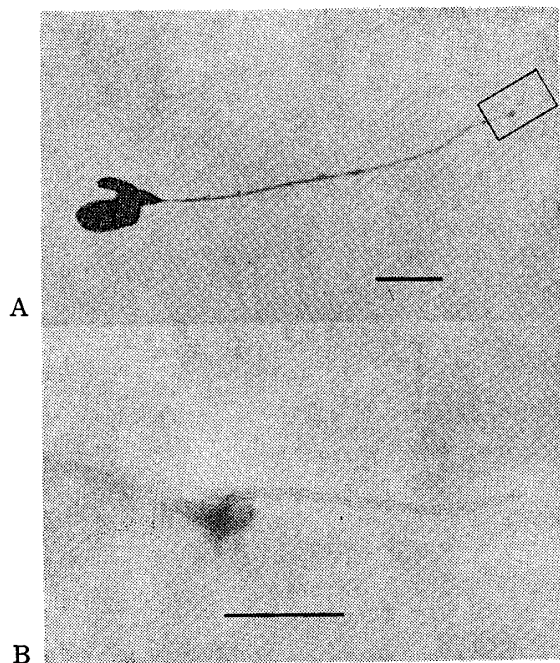


図 13 Fz strain の電子顕微鏡写真
Fig. 13. Electron micrograph of Fz strain. The bar in A indicates 1 μ m; in B, 0.1 μ m.

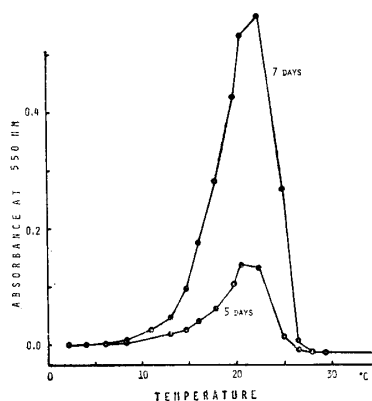


図 16 Fz strain の発育におよぼす温度の影響
Fig. 16. Effect of temperature on the growth of Fz strain.

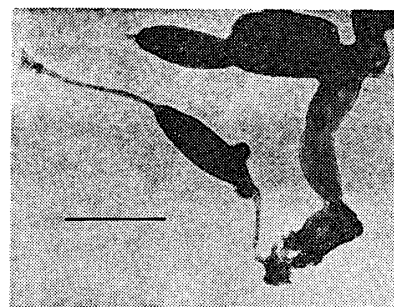


図 14 Fz strain の電子顕微鏡写真
Fig. 14. Electron micrograph of Fz strain. The bar indicates 1 μ m.

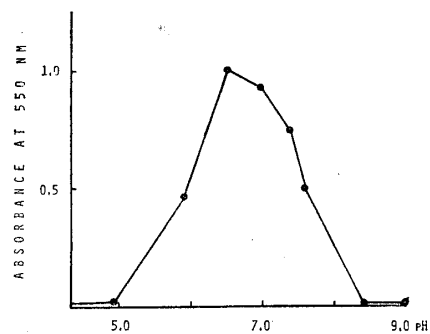


図 15 Fz strain の発育におよぼす pH の影響
Fig. 15. Effect of pH on the growth of Fz strain. Medium: 0.2% pepton, 0.1% yeast extract, 1 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 7.2); culture: 20°C, 7 days.

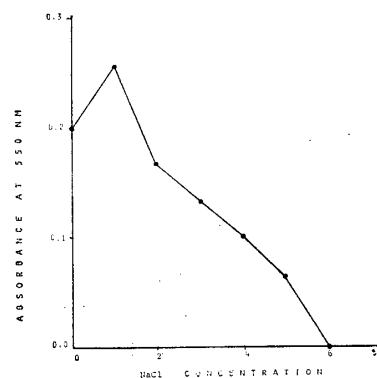


図 17 Fz strain の発育におよぼす NaCl 濃度の影響
Fig. 17. Effect of NaCl concentration on the growth of Fz strain. Culture; 20°C, 10 days.

は多くの場合、厚さ約 20nm の sheath で包まれていた。Stalk は時には両端にそれぞれ 1 本ずつみられた (図 14)。細胞分裂の際には鞭毛形成が認められなかった。

以上の特徴がみられたので、特にこの細菌に注目して生物性状を調べた。この小杆菌を以後 Fz strain とよぶことにする。

発育の pH は 5.5 - 8.0 で、至適 pH は 7.0 付近 (図 15) で、発育可能温度域は 10 - 25°C で (図 16)、20 - 22°C 付近が最適であり、25°C 以上では急激に発育が不良となった。長期間培養すれば、より低温域で発育できるものと思われる。塩濃度は NaCl 0 - 5 % で発育がみられた (図 17)。

表 4 Fz strain に対する抗生物質感受性試験
Table 4. Growth inhibition of Fz strain by antibiotics.

Antibiotics	Concentration	Sensitivity
Penicillin	0.5 u	+
Ampicillin	2.0 mcg	+
Sulbenicillin	30.0 mcg	+
Erythromycin	10.0 mcg	-
Chloramphenicol	5.0 mcg	+
Tetracyclin	5.0 mcg	+
Colistin	50.0 u	+
Streptomycin	10.0 mcg	+
Cephalexin	5.0 mcg	+
Polymyxin B	100.0 u	+
Gentamicin	30.0 mcg	+

表 5 Fz strain の発育におよぼす無機物と有機物の影響
Table 5. Effect of organic and inorganic materials.

Culture medium	19 days (O.D.)	24 days (O.D.)
Basal medium*	-0.002	0.028
+ Inorganic materials**	0.002	0.067
+ Casamino acid (0.5%)	0.015	0.040
+ Yeast extract (0.05%)	0.057	0.201
+ Inorganic materials	-0.003	0.062
+ Casamino acid		
+ Inorganic materials	0.035	0.413
+ Yeast extract		

* K_2HPO_4 0.7%, KH_2PO_4 0.3%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%, glucose 0.2%, Na-citrate 0.05%, NaCl 4% (pH 6.8).

** $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0005%, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0005%, $MnSO_4 \cdot 3H_2O$ 0.0005%, $CaCl_2$ 0.0001%.

糖分解はフルクトース, ガラクトース, グリコーゲン, マルトース, マンニット, マンノース, グルコース, アラビノース, サッカロース, ラムノース, キシロース, ラフィノース, ラクトース, ソルビトールすべて陰性であった. 抗生物質感受性テストによれば, エリスロマイシン($10\mu\text{g/ml}$)を除き, ほとんどの抗生物質に感受性があった(表 4). H_2S 発生, Urease 活性, カタラーゼも陰性でチトクロームオキシダーゼは陽性であった. 有機栄養物であるカザミノ酸の利用はみられなかった(表 5).

5. 考 察

ドライバレー塩湖に生存する可能性のある微生物の環境因子としての塩湖の温度, および塩組成は YAMAGATA *et al.* (1967), TORII *et al.* (1967) によって詳しく調べられている. それによると, 温度条件では, バンダ湖が $+24.9^\circ\text{C}$ と生物活動に最適条件をそなえているのに対して, CaCl_2 が 6.4%, MgCl_2 が 2.5%, NaCl が 1.2% も含まれており, これらの塩濃度からみれば, 生物の生命活動にとって極めて特殊な極限環境といえるであろう. また, 今回行われたガス分析では, N_2 , O_2 , CO_2 をそれぞれ高濃度に溶存しており, さらに, 今まで確認されていなかった CH_4 も検出され, 生物活動には支障ないように思われる. 微生物に関しては底層水から GOTO *et al.*, (1969) によって, 真菌類の *Cryptococcus albidus*, *Candida diffuens*, *Can. humicola*, *Can. scotti*, *Trichosporon culaneum*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. texensis*, *Rh. rubra* が分離されているが, 細菌に関しては未だに検出されていない.

今回採取した湖水試料においても細菌は検出できず, 真菌類も検出できなかった. 今後, さらに検討が必要と思われる.

ボニー東湖においては, 水温および塩組成が, 水深によって著しい変化を示すことが知られている (YAMAGATA *et al.*, 1967; TORII *et al.*, 1967). 水深 13 m で水温が $+7.0^\circ\text{C}$ にまで上昇し, それより深くなると低下し, 底層水で -2.8°C に達する. この温度変化は, 図 2 でみられた水深による溶存ガスの変化と関連があるかもしれない. 底層水中の溶存ガスには N_2 , O_2 , CO_2 が含まれ (CH_4 は微量), 微生物生育にとって支障はないと考えられるが, 塩組成からみると, MgCl_2 が約 10%, NaCl が 9%, また水温が -2.8°C であり, 生物活動を営むには非常に不利な条件下にあるといえよう. 過去において, 微生物はまったく検出されておらず, 今回初めて, *Diheterospora catenulata* が分離された. この不完全菌類は南極以外で土壤に生息することが知られているが, 南極大陸で分離されたのは今回が初めてである. なお細菌は今回の試料でも検出されなかった.

ボニー西湖は、塩組成は NaCl が 5.8%, $MgCl_2$ が 3.1% と東湖に比べ、塩含有量は幾分低いようであるが、水温が $-4.7^{\circ}C$ で温度の点では、生物環境として非常に厳しいと言えよう。溶存ガスに関しては、他と比べて最も変化に富んでいて、 CO_2 が非常に多く溶け込んでいるのに加えて、 N_2 , O_2 , Ar, CH_4 および未知成分 (m/e 22) などが検出された。m/e 22 イオンは未知のガス成分の分子イオンに相当することも予想されるが、また一方、 H_2O ピーク以後に現われる高分子有機物のフラグメントイオンの可能性もあり、今後なお検討を要する。このように何種類かの未知成分、メタン等有機ガスが検出されたことは、今回の調査が始めてであり、このことは、今後、生物の生息と関連して興味ある課題であろう。

微生物に関しては、過去にも検出されておらず、今回の場合も検出されなかった。

フリクセル湖の塩組成は海水に類似しており、その塩濃度は海水の約 1/5、温度は $+1.9^{\circ}C$ で、水深は 18 m である。溶存ガスは O_2 , N_2 , CO_2 のみであった。したがってフリクセル湖は、他の塩湖に比べて微生物生育にとって、あまり厳しくない環境にあると考えられる。しかしながら、従来調査で微生物は全く検出されていなかった。今回は初めて少なくとも 2 種類の細菌が分離されたわけである。

1 種は $0.5 \times 1-4 \mu$ の大きさで菌体の軸は直線、側面は不規則、両端まるく、固有運動はなく、鞭毛、莢膜共にないグラム陽性杆菌であり、もう 1 種はビブリオ状で芽胞、莢膜がなく、原形質膜が連続した stalk をもっているのが特徴である。stalk の先より時には直径約

表 6 *Caulobacter* と Fz strain の比較
Table 6. Differential characteristics of *Caulobacter* and Fz strain.

	<i>Caulobacter</i>	Fz strain
Cell	$0.5 \times 1-2 \mu$ (Vibrioid)	$0.5 \times 1 \mu$ (Vibrioid)
Stalk	1 (o.d. 150 nm)	1-2 (o.d. 60 nm)
Rosette formation	+	+
Flagellum	+	?
Gram	Negative	Negative
Respiration	Strictly aerobe	Strictly aerobe
Utilization of Casamino Acids	+, -*	-
Temperature	15-35°C	10-25°C
pH	6.0-9.0	5.5-8.0
NaCl 0 %	+, -**	+
4 %	-, +**	+

* *Caulobacter* CB-G strain, MARIS.

** *Caulobacter* ₂ MARIS.

15 nm の分枝がみられ、また多くの場合、stalk の先は他菌に接触しているか、または rosette を形成していた。

ところでこの stalk をもつ細菌の分類学的位置づけは、形態より *Caulobacteria* (POINDEXTER, 1964; SHAPIRO *et al.*, 1971; BUCHANAN *et al.*, 1974) に属する可能性があるので、主な特徴を比べてみた (表 6)。それによれば stalk の直径に大きな差異がみられ、発育可能 NaCl 濃度においても、Fz strain に合う *Caulobacter* は今までには見つけられていない。また、*Caulobacter* の大きな特徴の一つである鞭毛は、Fz strain においては今までのところ見出しされていない。以上の差異により Fz strain は、*Caulobacter* 属の内の新種か、あるいは *Caulobacter* 属からではなく新属を認定しうる可能性もあるものと考えられる。

謝 辞

終始ご指導とご校閲を賜りました恩師増井正幹教授に感謝の意を捧げます。また、本研究の機会を与えて下さり、南極での採集にご指導、ご協力を賜りました千葉工業大学鳥居鉄也教授、真菌類の分類にご協力を賜りました筑波大学椿啓介教授、細菌の分離にご協力を賜りました篠山保健所下内啓万博士に感謝の意を表わします。

文 献

- BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E. (1974): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore, The Williams and Wilkins Company.
- CAMERON, R. E., MORELLI, F. A. and RANDALL, L. P. (1972): Aerial aquatic and soil microbiology of Don Juan Pond, Antarctica. *Antarct. J. U.S.*, **7**, 254-258.
- GOTO, S., SUGIYAMA, J. and IIZUKA, H. (1969): A taxonomic study of Antarctic yeasts. *Micologica*, **61**, 748-774.
- HOROWITZ, N. H., CAMERON, R. E. and HUBBARD, J. S. (1972): Microbiology of the Dry Valley of Antarctica. *Science*, **176**, 242-245.
- MENNA, M. E. di (1960): Yeasts from Antarctica. *J. Gen. Microbiol.*, **23**, 295-300.
- MENNA, M. E. di (1966a): Three new yeasts from Antarctic soils, *Candida nivalis*, *Candida gelida* and *Candida frigida*. *Antonie van Leeuwenhoek; J. Microbiol. Serol.*, **32**, 25-28.
- MENNA, M. E. di (1966b): Yeasts in Antarctic soils. *Antonie van Leeuwenhoek; J. Microbiol. Serol.*, **32**, 28-38.
- MEYER, G. H., MORROW, M. B., WYSS, O., BERG, T. E. and LITTLEPAGE, J. L. (1962): Antarctica; The microbiology of an unfrozen saline pond. *Science*, **138**, 1103-1104.
- POINDEXTER, J. S. (1964): Biological properties and classification of the *Caulobacter* group. *Bacteriol. Rev.*, **28**, 231-295.
- SHAPIRO, L. and AGABIAN-KESHISHIAN, N. (1970): Specific assay for differentiation in the stalked bacterium *Caulobacter crescentus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **67**, 200-203.

- SHAPIRO, L., AGABIAN-KESHISHIAN, N. and BENDIS, I. (1971): Bacterial differentiation. *Science*, **173**, 884-891.
- SUGIYAMA, J., SUGIYAMA, Y., IZUKA, H. and TORII, T. (1967): Report of the Japanese summer parties in Dry Valleys, Victoria Land, 1963-1965. IV. Mycological studies of the Antarctic fungi. 2. Mycoflora of Lake Vanda, an ice-free lake. *Nankyoku Shiryo (Antarct. Rec.)*, **28**, 23-32.
- TORII, T., YAMAGATA, N. and CHO, T. (1967): Report of the Japanese summer parties in Dry Valleys, Victoria Land, 1963-1965. II. General description and water temperature data for the lakes. *Nankyoku Shiryo (Antarct. Rec.)*, **28**, 1-14.
- 鳥居鉄也・由佐悠紀・中尾欣四郎・橋本丈夫 (1972): 南極 Victoria Land の Dry Valley 調査報告. X. 1971-1972 年の Vanda 湖を中心とした地球物理および地球化学的調査について (予報). *南極資料*, **45**, 76-88.
- TUBAKI, K. (1961): On some fungi isolated from the Antarctic materials. *Biol. Results JARE*, **14**, 1-9.
- TUBAKI, K. and ASANO, I. (1965): Additional species of fungi isolated from the Antarctic materials. *JARE Sci. Rep., Ser. E (Biology)*, **27**, 1-12.
- YAMAGATA, N., TORII, T. and MURATA, S. (1967): Report of the Japanese summer parties in Dry Valley, Victoria Land, 1963-1965. V. Chemical composition of lake waters. *Nankyoku Shiryo (Antarct. Rec.)*, **29**, 53-75.

(1976年8月11日受理)